

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re the application of:

JIN, Ren-Hua

Group Art Unit: Not Yet Assigned

Serial No.: 10/661,554

Examiner: Not Yet Assigned

Filed: September 15, 2003

P.T. O. Confirmation No. 9061

For: WATER-SOLUBLE BLOCK COPOLYMER AND PRODUCTION METHOD
THEREFOR

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT AND
CLAIM FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

December 16, 2003

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application is hereby requested for the above-identified application, and the priority provided in 35 U.S.C. 119 is hereby claimed:

Japanese Appln. No. 2002-270064 filed September 17, 2002

In support of this claim, the requisite certified copy of said original foreign application is filed herewith. It is requested that the file of this application be marked to indicate that the applicants have complied with the requirements of 35 U.S.C. 119 and that the Patent and Trademark Office kindly acknowledge receipt of said certified copy.

In the event that any fees are due in connection with this paper, please charge our Deposit Account No. 01-2340.

Respectfully submitted,

ARMSTRONG, KRATZ, QUINTOS, HANSON & BROOKS, LLP

Donald W. Hanson
Attorney for Applicants
Reg. No. 27,133

Atty. Docket No. 031149
Suite 1000, 1725 K Street, N.W.
Washington, D.C. 20006
(202) 659-2930
DWH/nk



23850

PATENT TRADEMARK OFFICE

Enclosures: Certified Copy 2002-270064

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 9 月 1 7 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 2 7 0 0 6 4
Application Number:

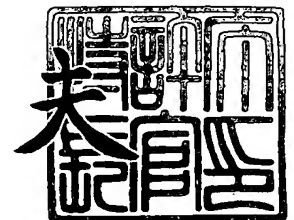
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 2 7 0 0 6 4]

出 願 人 財団法人川村理化学研究所
Applicant(s):

2 0 0 3 年 1 1 月 1 3 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康



【書類名】 特許願

【整理番号】 EPX010030

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C08F 8/12

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都大田区南千束 2 - 7 - 7

 【氏名】 金 仁華

【特許出願人】

 【識別番号】 000173751

 【氏名又は名称】 財団法人川村理化学研究所

【代理人】

 【識別番号】 100088764

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 高橋 勝利

 【電話番号】 03(5203)7758

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 005795

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 要約書 1

 【包括委任状番号】 9902076

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 水溶性ブロック共重合体の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 線状のポリ（エチレンイミン）ブロックとポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体の製造方法であって、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体（1）を、水と、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）を溶解するが水と非相溶の有機溶媒との混合溶媒中に分散させてエマルジョンを形成させ、酸またはアルカリ存在下に、該水溶性ブロック共重合体（1）のポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することを特徴とする水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項 2】 前記水溶性ブロック共重合体（1）が、その分子鎖末端の窒素原子に、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体である請求項 1 に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項 3】 前記水溶性ブロック共重合体（1）が、その分子鎖末端の炭素原子に、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体である請求項 1 に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項 4】 前記水溶性ブロック共重合体（1）が、その分子鎖末端の窒素原子が核（1）に結合した星型の水溶性ブロック共重合体である請求項 1 に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項 5】 前記水溶性ブロック共重合体（1）が、その分子鎖末端の炭素原子が核（2）に結合した星型の水溶性ブロック共重合体である請求項 1 に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項 6】 前記水溶性ブロック共重合体（1）が、その自由鎖末端の炭素原子に、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれ

かの骨格を有する基が結合した星型の水溶性ブロック共重合体である請求項4に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項7】 前記水溶性ブロック共重合体(1)が、その自由鎖末端の窒素原子に、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する基が結合した星型の水溶性ブロック共重合体である請求項5に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項8】 前記核(1)が、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する3価以上の基である請求項4に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【請求項9】 前記核(2)が、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する3価以上の基である請求項5に記載の水溶性ブロック共重合体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、アニオン性化合物とイオンコンプレックスを形成し得るカチオン性ブロックと、非イオン性ブロックとからなる分子鎖を有し、遺伝子キャリアーや、塗料あるいはインキの顔料分散剤など、幅広い用途に有用な水溶性ブロック共重合体の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来、ポリ(エチレンイミン)が製紙、化粧品、水の純化などに使用されてきた。しかしながら、ここ数年来、カチオン性重合体であるポリ(エチレンイミン)が、アニオン性生体高分子、たとえばDNAなどとの静電的なイオン相互作用により、イオンコンプレックスを形成することから、遺伝子キャリアーとして注目を集めている。

【0003】

ポリ(エチレンイミン)は本来カチオン性水溶性重合体であるが、DNAなどのアニオン性生体高分子とイオンコンプレックスを形成すると水に対して不溶と

になってしまうため、その用途は非常に限られたものとなる。カチオン性水溶性重合体とアニオン性生体高分子とのイオンコンプレックスに、水溶性あるいは水分散性を付与する方法としては、二重親水性ブロック共重合体を使用する方法がある。

【0004】

二重親水性ブロック共重合体は、従来の疎水・親水両親媒性ブロック共重合体と異なり、両ブロック共に水溶性であるが、両ブロックそれぞれが異なった機能を有する。すなわち、一方のブロックは水中で基質と相互作用し、他方のブロックは水溶性に寄与する。たとえば、ともに水溶性であるカチオン性ブロックと非イオン性ブロックとからなる水溶性ブロック共重合体を使用した場合、カチオン性ブロックがアニオン性化合物とのイオンコンプレックス形成能を有し、非イオンブロックが水溶性を有する。イオンコンプレックスを形成したカチオン性ブロックは水不溶のナノ粒子となるが、非イオン性ブロックは水中に広がりコロナ層を形成する。その結果、イオンコンプレックスをコアとし、非イオン性ブロックをコロナとするナノミセルが形成され、水中に均一に分散する。このようにして得られるナノミセルは、広い用途に応用可能で、特にDNAキャリアとして有用である。

【0005】

カチオン性ブロックとして、ポリ（エチレンイミン）ブロックを有する二重親水性ブロック共重合体の製造方法としては、たとえば、次の二つの方法が知られている。

その一つは、エチレンイミンのカチオン開環重合によって得られるポリ（エチレンイミン）と、分子鎖片末端にエポキシ基を有するポリ（エチレングリコール）をカップリングさせて水溶性ブロック共重合体を得る方法である（たとえば、非特許文献1参照。）。

【0006】

一般に、エチレンイミンのカチオン開環重合で得られるポリ（エチレンイミン）の分子鎖は高度に分岐していることが知られている。分岐度の高いポリ（エチレンイミン）は結晶性をもたず、そのカチオン構造は一級、二級、および三級ア

ミンから構成されているので、アニオン性高分子とイオンコンプレックスを形成させる場合、二級アミンのみから構成される線状ポリ（エチレンイミン）と比較して、イオン結合ドメイン形成効率が低い。

一方、非イオン性ブロックであるポリ（エチレングリコール）は、水溶性は高いものの脱水和しにくく、有機溶媒との親和性に乏しいという問題点があった。

【0007】

もう一つの方法は、分子鎖片末端にスルホン酸エステル構造を有するポリ（エチレングリコール）を開始剤として、2-メチル-2-オキサゾリンまたは2-エチル-2-オキサゾリンをカチオン開環重合させ、ポリ（エチレングリコール）ブロックとポリ（N-アシル-エチレンイミン）ブロックからなる水溶性ブロック共重合体を合成した後、ポリ（N-アシル-エチレンイミン）ブロックを加水分解してポリ（エチレンイミン）ブロックとする方法である（たとえば、非特許文献2参照。）。

【0008】

ポリ（N-アシル-エチレンイミン）を加水分解してポリ（エチレンイミン）を得る方法は、線状ポリ（エチレンイミン）の製法として知られており、上記方法においても線状のポリ（エチレンイミン）ブロックを有する水溶性ブロック共重合体を得られるが、非イオン性ブロックはポリ（エチレングリコール）であり、有機溶媒との親和性に乏しいという問題点があった。

【0009】

【非特許文献1】

ミロス・セドラック（Milos Sedlak），外2名，「マクロモレキュラー・ケミストリー・アンド・フィジクス（Macromolecular Chemistry and Physics）」，1999年，第199巻，p. 247-254

【非特許文献2】

ヨシツグ・アキヤマ（Yoshitsugu Akiyama），外3名，「マクロモレキュールズ（Macromolecules）」，2000年，第33巻，p. 5841-5845

【0010】

【発明が解決しようとする課題】

本発明が解決しようとする課題は、線状のカチオン性ブロックと、水溶性であり、かつ有機溶媒への溶解性を有する非イオン性ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体の製造方法を提供することにある。

【0011】**【課題を解決するための手段】**

本発明は、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）またはポリ（N-アセチルエチレンイミン）、および、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）が、どちらも水溶性であるが、前者に比べて後者の方が有機溶媒に対して高い溶解性を有することに着目してなされたものである。ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体の水溶液に、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）を溶解するが水と非相溶の有機溶媒を加えて攪拌すると、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックは水相に溶解し、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックは有機溶媒相に溶解してエマルジョンを形成する。

【0012】

この系に、酸またはアルカリを加えて加熱することによって、水相に溶解したポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックが優先的に加水分解される結果、線状のポリ（エチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体を得られる。該水溶性ブロック共重合体は、アニオン性化合物とイオンコンプレックスを形成した後も水溶性を保持し、かつ有機溶媒にも相溶性を示す。

【0013】**【発明の実施の形態】**

本発明の、線状のポリ（エチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体

は、その前駆重合体である、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体（以下、単に「水溶性ブロック共重合体（1）」と略記する。）のポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって得られる。

【0014】

以下、前記水溶性ブロック共重合体（1）のポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって得られる、前記線状のポリ（エチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体を、単に「水溶性ブロック共重合体（2）」と略記する。

【0015】

水溶性ブロック共重合体（1）は、2-オキサゾリンまたは2-メチル-2-オキサゾリンをカチオン開環リビング重合した後、得られたリビングポリマーに、さらに2-エチル-2-オキサゾリンを重合させることによって得られる。同様に、2-オキサゾリンまたは2-メチル-2-オキサゾリンの重合と、2-エチル-2-オキサゾリンの重合を交互に繰り返すことによって、多ブロックの水溶性ブロック共重合体（1）が得られる。

【0016】

上記カチオン開環リビング重合の開始剤としては、低分子化合物と高分子化合物を用いることができる。低分子化合物類の重合開始剤としては、分子中に塩化アルキル基、臭化アルキル基、ヨウ化アルキル基、トルエンスルホニルオキシ基、あるいはトリフルオロメチルスルホニルオキシ基などの官能基を有する化合物を用いることができる。具体的には、たとえば、塩化ベンジル、臭化ベンジル、ヨウ化ベンジル、トルエンスルホン酸ベンジル、トリフルオロメチルスルホン酸ベンジル、臭化メチル、ヨウ化メチル、トルエンスルホン酸メチルまたはトルエンスルホン酸無水物、トリフルオロメチルスルホン酸無水物、などが挙げられる

。これらの中でも、臭化アルキル、ヨウ化アルキル、トルエンスルホン酸アルキル、トリフルオロメチルスルホン酸アルキルは重合開始効率が高く、特に臭化アルキル、トルエンスルホン酸アルキルを使用するのが好ましい。

【0017】

カチオン開環リビング重合開始剤に、トリブロモメチルベンゼン、テトラブロモメチルベンゼン、ヘキサメチルブロモベンゼンなど、三官能性以上の多官能性重合開始剤を使用した場合は、該重合開始剤を核とし、分子鎖末端の窒素原子がこの核に結合した星型の水性ブロック共重合体(1)が得られる。以下、三官能性以上の多官能性重合開始剤を単に「核(1)」と略記する。

【0018】

高分子化合物の重合開始剤としては、たとえば、ポリ(エチレングリコール)の末端炭素原子に臭素原子あるいはヨウ素原子が結合したもの、末端酸素原子にトルエンスルホン基が結合したものなどを使用することができる。その場合、ポリ(エチレングリコール)の分子量は800~10000であればよく、1500~5000であれば特に好適である。

【0019】

カチオン開環リビング重合反応に使用する溶媒としては、非プロトン性不活性溶媒や非プロトン性極性溶媒など、公知慣用の溶媒を使用することができる。

水溶性ブロック共重合体(1)の各ブロックの重合度は20以上であるのが好ましい。各ブロックの重合度が20未満であるときは、ブロック共重合体としての特徴が発現しにくい。一分子鎖中に含まれるブロック数は、用途によって適宜選択することができ特に限定されないが、イオンコンプレックス会合によってナノミセルを形成しやすいジブロック体またはトリブロック体とするのが好ましい。

。

また、水溶性ブロック共重合体(1)の一分子鎖当たりの重合度は50~5000であるのが好ましい。

【0020】

水溶性ブロック共重合体(1)一分子中のポリ(N-ホルミルエチレンイミン

）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックの重合度と、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックの重合度との比は、一分子鎖当たりのブロック数とは無関係に、2：8～8：2の範囲にあるのが好ましい。

【0021】

カチオン開環リビング重合の開始剤として、上記官能基を有し、かつ特殊な機能を有する化合物（以下、単に「化合物（1）」と略記する。）を使用すれば、連鎖末端の窒素原子に該化合物（1）の残基が結合した水溶性ブロック共重合体（1）が得られ、そのポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって、分子鎖末端の窒素原子に、特殊な機能を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体（2）が得られる。

【0022】

化合物（1）としては、たとえば、上記カチオン開環リビング重合開始能を有する官能基を有し、かつ光による発光機能、エネルギー移動機能、電子移動機能を有するポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する色素類、具体的には、5-（4-ブロモメチルフェニル）-10, 15, 20-トリ（フェニル）ポルフィリン、テトラ（4-クロロメチルフェニル）ポルフィリン、ブロモメチルピレン、テトラブロモエトキシフタロシアニン、などが挙げられる。これらの化合物は、置換基を有していてもよい。化合物（1）が、三官能性以上の多官能性重合開始剤である場合は、該化合物（1）を核（1）とする星型の水溶性ブロック共重合体（1）が得られ、そのポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって、分子鎖末端の窒素原子が、特殊な機能を有する核（1）に結合した星型の水溶性ブロック共重合体（2）が得られる。

【0023】

カチオン開環リビング重合によって得られる水溶性ブロック共重合体（1）はリビングポリマーであり、分子鎖末端の炭素原子に活性点を有しているので、求核性の高い官能基、たとえば、アミノ基やフェノール性ヒドロキシ基などと容易

に反応する。したがって、該求核性の高い官能基を 3 個以上有する化合物を、リビングポリマーである水溶性ブロック共重合体 (1) と反応させれば、該化合物を核とする星型の水溶性ブロック共重合体 (1) が得られる (上記求核性の高い官能基を 3 個以上有する化合物である核を、以下単に「核 (2)」と略記する。)。すなわち、この場合は、分子鎖末端の炭素原子が核 (2) に結合した星型の水溶性ブロック共重合体 (1) が得られる。

【0024】

水溶性ブロック共重合体 (1) の活性末端に、該活性点と反応する上記官能基を有し、かつ前記の特殊な機能を有する化合物 (以下、単に「化合物 (2)」と略記する。) を反応させれば、分子鎖末端の炭素原子に該化合物 (2) の残基が結合した水溶性ブロック共重合体 (1) が得られ、そのポリ (N-ホルミルエチレンイミン) ブロックまたはポリ (N-アセチルエチレンイミン) ブロックを優先的に加水分解することによって、分子鎖末端の炭素原子に特殊な機能を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体 (2) が得られる。星型の水溶性ブロック共重合体 (1) の活性末端に化合物 (2) を反応させた場合は、自由鎖末端の炭素原子に特殊機能を有する基が結合した星型の水溶性ブロック共重合体 (1) が得られ、上記と同様にして自由鎖末端に特殊な機能を有する基が結合した星型の水溶性ブロック共重合体 (2) が得られる。

【0025】

化合物 (2) としては、たとえば、上記リビングポリマーの活性点との反応する官能基を有し、かつ光による発光機能、エネルギー移動機能、電子移動機能を有するポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する色素類、具体的には、5-(4-アミノフェニル)-10, 15, 20-トリ (フェニル) ポルフィリン、テトラ (4-アミノフェニル) ポルフィリン、アミノピレン、5-(4-ヒドロキシフェニル)-10, 15, 20-トリ (フェニル) ポルフィリン、テトラ (4-ヒドロキシフェニル) ポルフィリン、テトラ (3, 5-ジヒドロキシフェニル) ポルフィリン、アミノメチルピレン、テトラアミノフタロシアニンなどが挙げられる。これらの化合物は、置換基を有していてもよい。化合物 (2) が、三官能性以上の多官能性化合物である場合

は、該化合物（２）を核（２）とする星型の水溶性ブロック共重合体を得られ、そのポリ（Ｎ－ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（Ｎ－アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって、分子鎖末端の炭素原子が特殊な機能を有する核（２）に結合した星型の水溶性ブロック共重合体（２）が得られる。

【0026】

カチオン開環リビング重合開始剤として一官能性の化合物（１）を使用して得られた水溶性ブロック共重合体（１）のリビングポリマーと、一官能性の化合物（２）を反応させれば、分子鎖の両末端に特殊な機能を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体（２）が得られる。上記水溶性ブロック共重合体（１）のリビングポリマーと、核（２）として三官能性以上の化合物（２）を反応させれば、特殊機能を有する核（２）に結合した分子鎖の自由鎖末端の窒素原子に特殊機能を有する化合物（１）が結合した星型の水溶性ブロック共重合体（１）が得られる。

【0027】

このようにして得られた水溶性ブロック共重合体（１）のポリ（Ｎ－ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（Ｎ－アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって、分子鎖両末端に特殊な機能を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体（２）が得られる。

【0028】

光による発光機能、エネルギー移動機能、電子移動機能など、特殊な機能を有するポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格のいずれかの骨格を有する、化合物（１）、化合物（２）、核（１）、もしくは核（２）、またはこれらを組み合わせて得られる水溶性ブロック共重合体（１）の、ポリ（Ｎ－ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（Ｎ－アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することによって、上記機能を有する基が結合した水溶性ブロック共重合体（２）が得られる。

【0029】

本発明の水溶性ブロック共重合体の製造方法によって得られる水溶性ブロック

共重合体(2)は、線状のカチオン性ブロックを有しており、生体高分子などとの水中ナノミセル形成に用いることができる。該ナノミセルはナノ医療分野での、臨床用診断剤、治療剤として有用である。また、光機能性を有するナノミセルをナノリアクター(nanoreactor)、またはナノ粒子型触媒として用いることもできる。

【0030】

次に、水溶性ブロック共重合体(1)のポリ(N-ホルミルエチレンイミン)ブロックまたは(N-アセチルエチレンイミン)ブロックを優先的に加水分解して、水溶性ブロック共重合体(2)を製造する方法について説明する。

【0031】

水溶性ブロック共重合体(1)から水溶性ブロック共重合体(2)を得るためには、水溶性ブロック共重合体(1)のポリ(N-ホルミルエチレンイミン)ブロックまたは(N-アセチルエチレンイミン)ブロックの優先的な加水分解反応を、エマルジョン状態で行わなければならない。該エマルジョンは、基本的には水溶性ブロック共重合体(1)、水、および、ポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロックを溶解するが水と非相溶の有機溶媒からなる。該混合物を撹拌すると、水溶性ブロック共重合体(1)のポリ(N-ホルミルエチレンイミン)ブロックまたは(N-アセチルエチレンイミン)ブロックは水相に溶解し、一方、ポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロックは有機溶媒相に溶解してエマルジョンを形成する。この場合、水溶性ブロック共重合体(1)は乳化剤として作用する。該エマルジョンは、O/W型あるいはW/O型いずれであってもよい。

【0032】

上記水と非相溶の有機溶媒としては、塩化メチレン、クロロホルム、クロロベンゼン、ニトロベンゼン、メトキシベンゼン、トルエンなど、およびこれらの混合溶媒が挙げられる。

加水分解反応時、水相には、公知の加水分解触媒として酸またはアルカリを添加する。酸としては、塩酸、硫酸、硝酸など通常は無機酸類を、またアルカリとしては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、アンモニアなど通常は無機アルカ

り類を使用することができる。

【0033】

O/W型エマルジョンを反応場とする場合を例に挙げると、水相の酸またはアルカリの濃度は、加水分解されるポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを構成する単量体単位の数分の1の少なくとも2倍相当量であればよく、50倍以内とするのが好ましい。50倍を超えると、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックが加水分解を受けやすくなる。最も好ましい範囲は2～5倍である。

【0034】

加水分解反応温度は100℃以下が好ましく、使用する酸またはアルカリの濃度に合わせて設定するとよい。酸またはアルカリの濃度が高い場合は、温度を低く、たとえば室温程度に設定し、酸またはアルカリの濃度が低い場合は、反応温度を高めに設定するとよい。

【0035】

酸を用いたO/W型エマルジョンの加水分解反応系では、反応の進行に伴って反応系内でのO/W型エマルジョンが水中ミセルに変換するので、そのミセルの形成を目安として、反応の終点を判断することができる。たとえば、反応の初期においては、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックは水相に溶解してO/W型エマルジョンを形成するが、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックが塩酸存在下に加水分解されて生成するポリ（エチレンイミン）ブロックの塩酸塩は、酸性の水相ではポリマー結晶となる。該ポリマー結晶は酸性の水相に不溶であるためエマルジョンが破壊され、その結果、該ポリマー結晶がコアとなり、そのまわりを水溶性のポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックが覆ったコア-コロナ型のミセルが形成される。水相は不透明なミセル分散液となり、有機溶媒は油滴ではなく、油相として水相から分離する。この現象は視覚によって明確に観測でき、反応の終点の目安とすることができる。

【0036】

一般的に、加水分解反応は2～48時間が好適であるが、酸の濃度、反応温度などの条件によって異なる。

上記加水分解反応によって、水溶性ブロック共重合体(1)のポリ(N-ホルミルエチレンイミン)ブロックまたはポリ(N-アセチルエチレンイミン)ブロックが優先的に加水分解されてポリ(エチレンイミン)ブロックとなり、水溶性ブロック共重合体(2)が得られるが、この際、ポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロックもいくらか加水分解を受け、エチレンイミン単位となる。

【0037】

しかし、この加水分解反応は、ポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロック中のランダムな位置で起こるのではなく、水と非相溶の有機溶媒中に溶解しているポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロックが、攪拌や分子鎖の熱運動によって水相に引き出された部分で起こる。すなわち、ポリ(エチレンイミン)ブロックに隣接した部分の(N-プロピオニルエチレンイミン)単位が加水分解され結果、ポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロックが加水分解を受けなかった場合と比較して、単に、得られる水溶性ブロック共重合体(2)のポリ(エチレンイミン)ブロックの分子鎖長が幾分長くなり、ポリ(N-プロピオニルエチレンイミン)ブロックの分子鎖長が幾分短くなるにすぎない。

【0038】

本発明において、O/W型エマルジョンを形成させるための好ましい配合例は、水溶性ブロック共重合体(1) 1gに対し、水5～40ml、水と非相溶の有機溶媒は0.5～6mlである。

【0039】

本発明の製造方法によって得られる水溶性ブロック共重合体(2)は、アニオン性の染料、顔料との水中ナノ分散体作製に有用であり、前記、ナノ医療分野における臨床用診断剤や治療剤、あるいは、ナノリアクター(nanoreactor)やナノ粒子型触媒などの用途以外に、各種水性塗料や水性インキ、中でも水性ジェットインキなどにも好適に使用することができる。

【0040】

【実施例】

以下、実施例および参考例によって本発明をさらに具体的に説明する。特に断らない限り、「%」は「質量%」を表す。

【0041】

<分子量測定法>

東ソー株式会社製高速液体クロマトグラフィー「HLC-8000」（RI検出器、TSK gel 2000x1+3000Hx1+5000Hx1+guard column Hx1-H、溶媒ジメチルホルムアミド、流速1.0ml/分、温度40℃）を使用して測定した。

【0042】

<粒径および粒径分布の測定法>

日機装株式会社製UPA粒度分析計「Microtrac 9203」（レーザー光波長780nm、反射角180°、温度25℃）を使用して、動的光散乱（DLS）法による粒径および粒径分布を測定した。

【0043】

（合成例1）

<水溶性ブロック共重合体（1-1）の合成>

容積50mlの反応容器内部を窒素ガスで置換した後、カチオン開環リビング重合開始剤である臭化ベンジル0.171g（1mmol）、N,N-ジメチルアセトアミド5mlを加え、室温で攪拌した。この溶液に、2-メチル-2-オキサゾリン8.51g（0.1mol）を加えた後、100℃で24時間攪拌しながら2-メチル-2-オキサゾリンをカチオン開環リビング重合させた。重合率は98%であった。

【0044】

反応液温度を60℃に下げた後、2-エチル-2-オキサゾリン4.95g（0.05mol）を加えた後、100℃に加熱し24時間攪拌した。反応混合液の温度を室温に下げ、メタノール10mlを加えた後、反応混合液を減圧濃縮した。この濃縮液をジエチルエーテル100ml中に注いで、重合体を沈殿させた。

得られた重合体のメタノール溶液を、ジエチルエーテル中に注いで再沈殿させ

、吸引濾過後、濾過物を真空乾燥し、水溶性ブロック共重合体 (1-1) 12.95 g を得た。収率は 95 % であった。

【0045】

得られた水溶性ブロック共重合体 (1-1) の分子量を測定した結果、数平均分子量 (以下、「 M_n 」と略記する。) は 12000 であり、分子量分布は 1.15 であった。

^1H -NMR 測定による (N-アセチルエチレンイミン) 単位と、(N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のモル組成比は 70 : 30 であった。

【0046】

(合成例 2)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (1-2) の合成>

反応容器に、六官能性のカチオン開環リビング重合開始剤であり、星型の水溶性ブロック共重合体 (1) の核 (1) となるヘキサブロモメチルベンゼン 0.021 g (0.033 mmol) を加え、窒素置換した。窒素気流中、2-メチル-2-オキサゾリン 1.53 g (18 mmol)、および N, N-ジメチルアセトアミド 5 ml を順次加えた。攪拌しながら 60 °C に加熱して 10 分間保持し、次いで 100 °C に昇温し、20 時間攪拌した。 ^1H -NMR の測定結果から、2-メチル-2-オキサゾリンがほぼ定量的に重合し、ポリ (N-アセチルエチレンイミン) が得られたことが確認できた。この重合体の分子量を測定した結果、質量平均分子量は 21400 で、分子量分布は 1.65 であった。

【0047】

上記反応液に、さらに 2-エチル-2-オキサゾリン 0.59 g (6 mmol) を加え、100 °C で 24 時間攪拌した。得られた重合体を、合成例 1 と同様の方法で単離し、星型の水溶性ブロック共重合体 (1-2) 2.1 g を得た。収率は 97 % であった。

分子量測定および ^1H -NMR 測定した結果、質量平均分子量が 24400、分子量分布が 1.72、分子鎖中の (N-アセチルエチレンイミン) 単位と、(N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のモル組成比は 80 : 20 であった。

【0048】

(合成例 3)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (1-3) の合成>

六官能性カチオン開環リビング重合開始剤であり、星型の水溶性ブロック共重合体 (1) の核 (1) となるヘキサブロモメチルベンゼン 0.033 g (0.052 mmol)、2-メチル-2-オキサゾリン 1.53 g (18 mmol)、2-エチル-2-オキサゾリン 0.99 g (10 mmol)、および N, N-ジメチルアセトアミド 5 ml を使用した以外は、合成例 1 と同様の方法で、星型の水溶性ブロック共重合体 (1-3) 2.4 g を得た。収率は 94% であった。

質量平均分子量は 29700、分子量分布は 1.81、分子鎖中の (N-アセチルエチレンイミン) 単位と、(N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のモル組成比は 68:32 であった。

【0049】

(合成例 4)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (1-4) の合成>

内部をアルゴンガスで置換した反応容器に、四官能性のカチオン開環リビング重合開始剤であり、星型の水溶性ブロック共重合体 (1) の核 (1) となるテトラ (4-クロロメチルフェニル) ポルフィリン 0.022 g (0.027 mmol)、ヨウ化ナトリウム 0.12 g、および N, N-ジメチルアセトアミド 6 ml を加え、室温で 3 時間攪拌した。この溶液に、2-エチル-2-オキサゾリン 0.99 g (10 mmol) を加え、100℃ に昇温し 24 時間攪拌した。

【0050】

反応液温度を 60℃ に下げた後、2-メチル-2-オキサゾリン 1.53 g (18 mmol) を加え、100℃ に昇温して 24 時間攪拌した。得られた重合体を、

合成例 1 と同様の方法で単離し、星型の水溶性ブロック共重合体 (1-4) 2.4 g を得た。収率は 95% であった。

【0051】

分子量測定および ^1H -NMR 測定した結果、質量平均分子量が 25800、分子量分布が 1.72、分子鎖中の (N-アセチルエチレンイミン) 単位と、(

N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のもル組成比は 71 : 29 であった。

この星型の水溶性ブロック共重合体 (1-4) は、核にポルフィリン構造を有するため、該ブロック共重合体水溶液の吸収スペクトルにおいて、ポルフィリンに固有のソレー (Soret) 帯に由来する 420 nm (free base) の強い吸収が観測された。

【0052】

(合成例 5)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (1-5) の合成>

窒素ガスで置換した反応容器に、トルエンスルホン酸メチル 0.044 g (0.236 mmol)、N, N-ジメチルアセトアミド 5 ml、2-エチル-2-オキサゾリン 2.34 g (0.0236 mol) を加えた後、100℃で16時間攪拌した。

反応液温度を 60℃に下げた後、2-メチル-2-オキサゾリン 2.01 g (0.0236 mol) を加えた、100℃に加熱し、24時間攪拌した。

【0053】

反応液温度を室温に下げた後、四官能性の核 (2) としてテトラ (4-アミノフェニル) ポルフィリン 0.038 g (0.056 mmol) を加え、80℃で24時間攪拌した。

合成例 1 と同様の方法によって生成物を単離し、星型の水溶性ブロック共重合体 (1-5) 4.27 g を得た。収率は 96% であった。

【0054】

分子量測定および ^1H -NMR 測定した結果、質量平均分子量が 58700、分子量分布が 1.25、分子鎖中の (N-アセチルエチレンイミン) 単位と、(N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のもル組成比は 51 : 49 であった。

この星型の水溶性ブロック共重合体 (1-5) は、核にポルフィリン構造を有するため、該ブロック共重合体水溶液の吸収スペクトルにおいて、ポルフィリンに固有のソレー (Soret) 帯に由来する 418 nm (free base) の強い吸収が観測された。

【0055】

(実施例 1)

<水溶性ブロック共重合体 (2-1) の合成>

合成例 1 で得た水溶性ブロック共重合体 (1-1) 0.5 g を、5 mol/l 塩酸 20 ml に溶解し、これにクロロホルム 3 ml を加えて 30 分間攪拌してエマルジョンを得た。該エマルジョンを 50℃ に加熱し、10 時間攪拌した。反応液にアセトン 50 ml を加えて重合体を沈殿させた後、吸引濾過し、アセトンで洗浄した。得られた重合体を乾燥し、線状のポリ (エチレンイミン) ブロックと、ポリ (プロピオニルエチレンイミン) ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体 (2-1) 0.45 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ 測定の結果、分子鎖中の (エチレンイミン) 単位と、(N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のモル組成比は 80 : 20 であった。

【0056】

(実施例 2)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (2-2) の合成>

実施例 1 における水溶性ブロック共重合体 (1-1) の代わりに、合成例 2 で得た星型の水溶性ブロック共重合体 (1-2) を使用したこと以外は、すべて実施例 1 と同様にして、線状のポリ (エチレンイミン) ブロックと、ポリ (プロピオニルエチレンイミン) ブロックとからなる分子鎖を有する星型の水溶性ブロック共重合体 (2-2) 0.43 g を得た。

分子鎖中の (エチレンイミン) 単位と、(N-プロピオニルエチレンイミン) 単位のモル組成比は 85 : 15 であった。

【0057】

(実施例 3)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (2-3) の合成>

実施例 1 における水溶性ブロック共重合体 (1-1) の代わりに、合成例 3 で得た星型の水溶性ブロック共重合体 (1-3) を使用したこと以外は、すべて実施例 1 と同様にして、線状のポリ (エチレンイミン) ブロックと、ポリ (プロピオニルエチレンイミン) ブロックとからなる分子鎖を有する星型の水溶性ブロック共重合体 (2-3) 0.47 g を得た。

分子鎖中の（エチレンイミン）単位と、（N-プロピオニルエチレンイミン）単位のモル組成比は72：28であった。

【0058】

（実施例4）

＜星型の水溶性ブロック共重合体（2-4）の合成＞

実施例1における水溶性ブロック共重合体（1-1）の代わりに、合成例4で得た星型の水溶性ブロック共重合体（1-4）を使用したこと以外は、すべて実施例1と同様にして、線状のポリ（エチレンイミン）ブロックと、ポリ（プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する星型の水溶性ブロック共重合体（2-4）0.45gを得た。

【0059】

分子鎖中の（エチレンイミン）単位と、（N-プロピオニルエチレンイミン）単位のモル組成比は79：21であった。

この星型の水溶性ブロック共重合体は、核にポルフィリン構造を有するため、該ブロック共重合体水溶液の吸収スペクトルにおいて、ポルフィリンに固有のソレー（Soret）帯に由来する420nm（free base）の強い吸収が観測された。

【0060】

（実施例5）

＜星型の水溶性ブロック共重合体（2-5）の合成＞

実施例1における水溶性ブロック共重合体（1-1）の代わりに、合成例5で得た星型の水溶性ブロック共重合体（1-5）を使用したこと以外は、すべて実施例1と同様にして、線状のポリ（エチレンイミン）ブロックと、ポリ（プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する星型の水溶性ブロック共重合体（2-5）0.42gを得た。

【0061】

分子鎖中の（エチレンイミン）単位と、（N-プロピオニルエチレンイミン）単位のモル組成比は62：38であった。

この星型の水溶性ブロック共重合体は、核にポルフィリン構造を有するため、該ブロック共重合体水溶液の吸収スペクトルにおいて、ポルフィリンに固有のソ

レー (Soret) 帯に由来する 442 nm (プロトン化) の強い吸収が観測された。

【0062】

(応用例)

<星型の水溶性ブロック共重合体 (2-4) と DNA とのイオン会合によるナノ粒子の形成>

実施例 4 で得た星型の水溶性ブロック共重合体 (2-4) 0.015 g を 1 ml の蒸留水に溶解し、この溶液を、サケの精子から抽出した DNA を含む濃度 2.2 mg/ml の水溶液 4 ml 中に滴下し、1 時間攪拌した。該分散液について、動的光散乱法によって、星型の水溶性ブロック共重合体 (2-4) と DNA との会合粒子の形成を確認したところ、平均中心粒径が 175 nm で、単分散状態のナノ粒子が観測された。さらに、この分散液に、0.2 g の食塩を加え、塩濃度を 0.69 mol/l に調製し、再び会合粒子の粒径を確認したところ、平均中心粒径は 175 nm のままであった。DNA を含むナノ粒子は、これほどの高濃度の食塩中でも全く凝集することなく、これを半年間放置した後にも粒径変化は起こらず、きわめて高い安定性を保持した。この安定性の高さは、星型の水溶性ブロック共重合体 (2-4) の (N-プロピオニルエチレンイミン) ブロックがイオン会合コアを取り囲む水溶性コロナ層を形成したことを強く示唆する。この中性のコロナ層が塩の静電気的な遮蔽効果を弱める働きをしたと推測できる。

【0063】

上記実施例に示した本発明における加水分解反応の特徴は、(N-アセチルエチレンイミン) 単位が優先的に加水分解されることと、加水分解を受けるのが側基であるアシル基のみであり、分子鎖の主鎖構造は全く変化しないことである。したがって、加水分解反応前後で水溶性ブロック共重合体の重合度は変わらない。

実施例 1 ~ 5 で得られた水溶性ブロック共重合体 (2-1) ~ (2-5) の ^1H -NMR 測定の結果、前駆重合体である水溶性ブロック共重合体 (1-1) ~ (1-5) で 1.97 ppm に現れた (N-アセチルエチレンイミン) 単位のメチル基に由来するピークが完全に消失していた。一方、(N-プロピオニルエチ

レンイミン) 単位のメチル基に由来する 1. 13 ppm のピークは残存し、そのピークの積分強度は加水分解前よりはいくぶん減少するが、その減少の度合いは加水分解反応時間を変えることによって制御できることから、ポリ (N-アセチルエチレンイミン) ブロックが優先的に加水分解されていることが明らかである。

【0064】

加水分解反応後の水溶性ブロック共重合体 (2-1) ~ (2-5) における (エチレンイミン) 単位のモル分率は、いずれもその前駆重合体である水溶性ブロック共重合体 (1-1) ~ (1-5) における (N-アセチルエチレンイミン) 単位のモル分率よりも増大している。これは、加水分解反応がポリ (N-アセチルエチレンイミン) ブロックだけではなく、ポリ (N-プロピオニルエチレンイミン) ブロックにおいても起こり、その部分が (エチレンイミン) 単位に変化したことを意味している。

【0065】

しかし、本発明における水溶性ブロック共重合体 (1) の加水分解反応は、エマルジョン中で行うため、有機溶媒相に溶解したポリ (N-プロピオニルエチレンイミン) ブロックの大部分は加水分解を受けず、攪拌や熱運動によって該ブロックが水相にわずかに引き出された部分のみが加水分解されたと解するのが妥当である。すなわち、ポリ (N-プロピオニルエチレンイミン) ブロックの加水分解は、該ブロックのランダムな位置で起こるのではなく、ポリ (エチレンイミン) ブロックに連続した部分で起こっており、したがって、水溶性ブロック共重合体 (2) のブロック配列には、実質的な乱れはないと結論できる。

【0066】

上記 (応用例) から明らかなように、本発明の水溶性ブロック共重合体の製造方法によって得られる、線状のポリ (N-アセチルエチレンイミン) ブロックと、ポリ (N-プロピオニルエチレンイミン) ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体は、線状のポリ (N-アセチルエチレンイミン) ブロックがカチオン性ブロックであり、アニオン性の生体高分子である DNA とイオンコンプレックスを形成し、ナノ粒子となって水相に分散する。

【0067】

【発明の効果】

本発明の水溶性ブロック共重合体の製造方法によれば、ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体（1）を、水と、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）を溶解するが水と非相溶の有機溶媒との混合溶媒中に分散させてエマルジョンを形成させ、酸またはアルカリ存在下で加水分解することによって、該水溶性ブロック共重合体（1）のポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解することができ、カチオン性ブロックである線状のポリ（エチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体（2）が得られる。

【0068】

前記水溶性ブロック共重合体（1）を、2-オキサゾリンまたは2-メチル-2-オキサゾリンと、2-エチル-2-オキサゾリンとのカチオン開環リビング重合によって合成する場合に、三官能性以上の多官能性の開始剤を使用すれば星型の水溶性ブロック共重合体（1）が得られ、これを加水分解して星型の水溶性ブロック共重合体（2）が得られる。

【0069】

カチオン開環リビング重合開始剤が、ポルフィリン骨格、フタロシアニン骨格、またはピレン骨格など、特殊な機能を有する骨格をもっている場合は、最終的に得られる線状または星型の水溶性ブロック共重合体（2）に、光による発光機能、エネルギー移動機能、電子移動機能などの特殊な機能を付与することができる。

【0070】

カチオン開環リビング重合によって合成した前記水溶性ブロック共重合体（1）は、リビングポリマーであり、分子鎖末端の炭素原子上に活性点を有する。この活性点と反応する基を3個以上有する化合物を該リビングポリマーと反応させ

ることによっても、星型の水溶性ブロック共重合体（１）、およびこれを加水分解した星型の水溶性ブロック共重合体（２）が得られる。

【0071】

前記分子鎖末端の活性点と反応させる化合物に、上記特殊な機能を有する骨格をもつ化合物を使用すれば、最終的に得られる線状および星型の水溶性ブロック共重合体（２）に特殊な機能を付与することができる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 線状のカチオン性ブロックと、水溶性であり、かつ有機溶媒への相溶性を有する非イオン性ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体の製造方法を提供すること。

【解決手段】 ポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックと、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）ブロックとからなる分子鎖を有する水溶性ブロック共重合体を、水と、ポリ（N-プロピオニルエチレンイミン）を溶解するが水と非相溶の有機溶媒との混合溶媒中に分散させてエマルジョンを形成させ、酸またはアルカリ存在下に、該水溶性ブロック共重合体のポリ（N-ホルミルエチレンイミン）ブロックまたはポリ（N-アセチルエチレンイミン）ブロックを優先的に加水分解する、水溶性ブロック共重合体の製造方法を提供。

【選択図】 なし。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-270064
受付番号	50201387092
書類名	特許願
担当官	第六担当上席 0095
作成日	平成14年 9月18日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成14年 9月17日

次頁無

特願 2 0 0 2 - 2 7 0 0 6 4

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 1 7 3 7 5 1]

1 . 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 4 日

[変更理由]

新規登録

住 所

千葉県佐倉市坂戸 6 3 1 番地

氏 名

財団法人川村理化学研究所